Contribution a l'étude de l'action de la Thyroxine sur la métamorphose des Têtards de grenouille en fonction de leur stade de développement.

Par Paul Roth.

En 1937, j'ai montré que la Thyroxine synthétique Hoffmann-Laroche, délivrée de manière à donner des doses de 100 à 50 millionièmes, accélérait notablement la métamorphose des *jeunes têtards de Rana temporaria*, mais sans trop modifier la proportionnalité des divers segments du corps. J'ai pensé qu'il serait intéressant d'étudier systématiquement l'action de la thyroxine sur ces mêmes animaux pris aux divers stades de leur développement jusqu'à la pré-métamorphose.

Plusieurs auteurs ont envisagé l'accélération de la métamorphose des têtards par la Thyroxine, la thyroïde fraîche ou l'extrait thyroïdien, en fonction de la croissance de ces animaux, mais la plupart d'entre eux ont été plus ou moins imprécis quant au stade exact du développement auquel étaient arrivés les têtards au moment de la mise en expérience.

Fontès et Aron n'ont donné aucune indication précise sur l'âge et l'état des têtards thyroxinés.

Alphonse et Banmann ont donné les mensurations des bourgeons des membres postérieurs, mais leurs expériences n'ont porté que sur 2 stades au plus. Ils ont néanmoins insisté sur l'importance de l'âge.

Dragoiü et Fauré-Frémiet ont indiqué nettement l'âge de leurs animaux, mais s'en sont tenus à un seul stade sans faire d'expériences comparatives.

Seul Kollmann a fait porter ses investigations sur tous les stades du développement des têtards de grenouille et il a donné sur ces stades d'indiscutables précisions en établissant une échelle de croissance comprenant 8 échelons allant de la résorption des branchies à la sortie des membres antérieurs.

Bredt s'est contenté de conclure que les têtards, au stade de la pré-métamorphose, ne sont pas sensibles à l'action de la thyroxine.

Technique. — Ces expériences ont été faites avec des têtards de *Rana temporaria* et de *Rana agilis*, espèces voisines, qui donnent des résultats comparables.

Les animaux, provenant d'une même ponte et choisis aussi semblables que possible, étaient répartis en lots de 10, immergés chacun dans 250 cc. d'eau de source, riche en calcium (ce qui est important, ainsi que je l'ai montré) et étaient nourris avec de la poudre de viande.

Sauf les animaux des lots de contrôle, les autres étaient traités par la thyroxine mélangée au milieu d'élevage de manière à donner 3 doses différentes :

1 dose faible : 100.000.000e (10^{-8}) ;
1 dose moyenne : 25.000.000e ($2,5 \times 10^{-7}$) ;
1 dose forte : 5.000.000e (5×10^{-6}).

Les vases renfermant les animaux étaient à l'abri des rayons solaires et maintenus à la température du Laboratoire.

Les têtards ont été pris aux stades 2-3-4-5 et 6 de Kollmann, dont voici la nomenclature :

Stade 1 (ou A) : Aucune trace de pattes postérieures.
Stade 2 (ou B) : Présence de bourgeons blanchâtres précédant l'apparition des pattes.
Stade 3 (ou C) : Présence de pattes postérieures, visibles, mais très petites.
Stade 4 (ou D) : Présence de pattes plus grandes, mais presque droites et allongées sur la queue.
Stade 5 (ou E) : Présence de pattes encore plus grandes, mais encore allongées sur la queue.
Stade 6 (ou F) : Pattes en flexion, comme chez l'adulte.
Stade 7 (ou G) : Corps commençant à prendre la forme de l'adulte.
Stade 8 (ou H) : Présence des membres antérieurs.

L'expérimentation au stade 7 était inutile, la métamorphose naturelle étant toute proche.

Les mensurations des animaux ont été prises de la manière suivante :

Longueur du tronc : de l'extrémité du museau jusqu'au cloaque.

Longueur des membres postérieurs : depuis l'articulation coxo-fémoral jusqu'à l'extrémité du plus long orteil.

Longueur des membres antérieurs : depuis l'articulation scapulo-humérale jusqu'à l'extrémité du doigt le plus long.

Largeur de la tête : mesurée au niveau des mâchoires.

Le coefficient d'allométrie ou d'isométrie a été obtenu de la même manière que lors de mes dernières expériences, en divisant la longueur du tronc par celle des membres postérieurs.

Résultats. — Pour l'action de la thyroxine sur les têtards pris au stade 2, je n'ai pas renouvelé mes expériences de 1937 et les chiffres sont ceux que j'ai publiés à cette époque.

L'accélération de la métamorphose avait été très considérable et le coefficient d'allométrie très élevé avec la plus forte dose (5×10^{-6}) et néanmoins encore très appréciable pour les deux autres.

Ces chiffres s'abaissent quand on prend les animaux au stade suivant 3, mais on remarquera que l'accélération de la métamorphose ne varie pas pour la dose faible, non plus que le coefficient d'allométrie ; les chiffres ne s'abaissent, en réalité, que pour les doses moyenne et forte, et cela d'une manière sensible.

La métamorphose paraît s'accélérer davantage quand on prend les animaux au 4e stade, car les temps sont plus courts que pour les animaux pris au stade précédent. En réalité, cette accélération n'est qu'apparente, elle est fonction du développement plus avancé des animaux qui sont, par conséquent, plus près de la métamorphose normale ; les temps des animaux thyroxinés se rapprochent ainsi de ceux des témoins et, plus les têtards seront pris à un stade de développement avancé plus les temps de métamorphose tendront à s'équilibrer, ainsi qu'on le verra plus loin. — A ce stade le membre antérieur gauche apparaît encore le premier, contrairement à ce qui se passe dans la métamorphose normale. D'autre part, le coefficient d'allométrie baissera de plus en plus et tendra vers l'isométrie, c'est-à-dire vers un rapport normal entre les divers segments du corps.

Avec les animaux pris au stade 5, les temps de métamorphose commencent à être comparables à ceux des témoins. Le coefficient tend vers l'isométrie pour la plus faible dose, car, pour les deux autres, le coefficient est encore nettement allométrique, mais maintenant, c'est le nombre antérieur *droit* qui apparaît le premier comme dans la métamorphose naturelle.

Il n'y a plus d'accélération de la métamorphose quand les têtards sont pris au stade 6.

Seuls, les individus les plus thyroxinés ont encore un coefficient légèrement allométrique, les animaux les moins thyroxinés ne pouvant être distingués des témoins.

TABLEAU N° 1

Têtards de Rana Temporaria pris au stade 2 (*B*).

	Témoins	Tyroxine		
		10^{-8}	$2,5 \times 10^{-7}$	5×10^{-6}
Longueur du tronc en m/m...	12	8	7	6,5
Longueur des membres postér.	13	7	4,5	2
Longueur des membres antér..	5,5	2,3/4	2	1,5
Largeur de la tête...........	5	3,5	3	4
Rapport entre le tronc et les membres postérieurs........	$\frac{12}{13}$	$\frac{8}{7}$	$\frac{7}{4,5}$	$\frac{6,5}{2}$
Coefficient	0,92	1,14	1,51	3,25
Première métamorphose en jours	26	16	12	6
Dernière métamorphose en jours	53	23	19	7

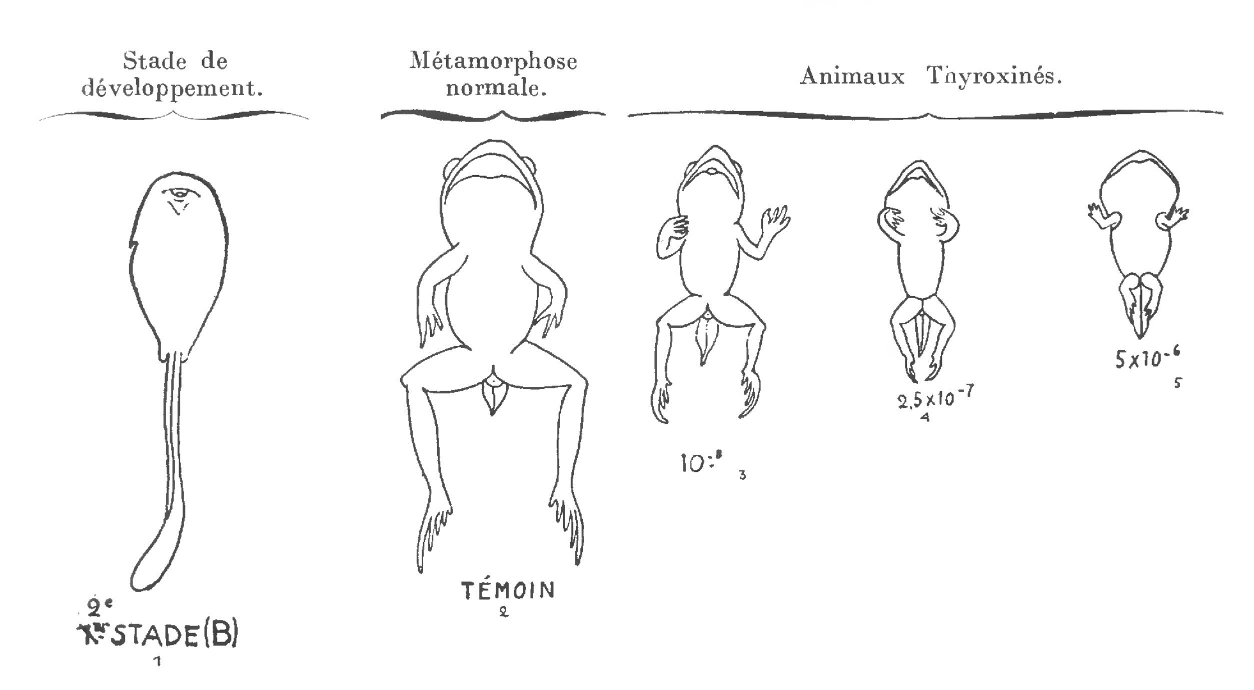


TABLEAU N° 2

TÊTARDS DE RANA TEMPORARIA PRIS AU STADE 3 (*C*).

	Témoins	Thyroxine		
		10^{-8}	$2{,}5 \times 10^{-7}$	5×10^{-6}
Longueur du tronc en m/m....	10,5	9,25	8,75	8
Longueur des membres postér.	13	8,8	7,5	4
Longueur des membres antér..	6,5	4,6	4,25	2,5
Largeur de la tête...........	5	4	3,7	4,1
Rapport entre le tronc........ et les membres postérieurs....	$\frac{10{,}5}{13}$	$\frac{9{,}25}{8{,}8}$	$\frac{8{,}75}{7{,}5}$	$\frac{8}{4}$
Coefficient	0,8	1,05	1,17	2
Première métamorphose en jours	31	15	15	9
Dernière métamorphose en jours	53	22	18	12

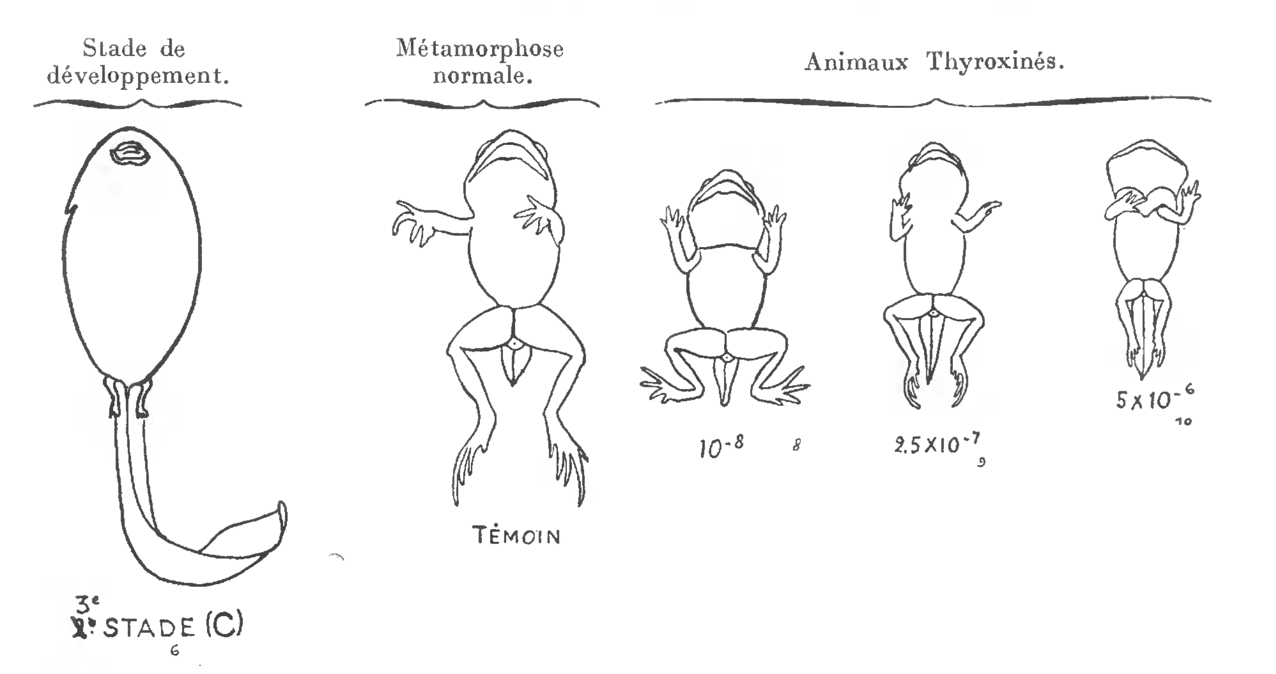


TABLEAU N° 3

TÊTARDS DE RANA AGILIS PRIS AU STADE 4 (*D*).

	Témoins	Thyroxine		
		10^{-8}	$2,5 \times 10^{-7}$	5×10^{-6}
Longueur du tronc en m/m....	10,5	10,2	9,7	9,8
Longueur des membres postér.	12	9,9	9,1	7,9
Longueur des membres antér..	5,5	5,3	5	4,5
Largeur de la tête...........	4,5	4,5	5	4,5
Rapport entre le tronc et les membres postérieurs.......	$\frac{10,5}{12}$	$\frac{10,2}{9,9}$	$\frac{9,7}{9,1}$	$\frac{9,8}{7,9}$
Coefficient	0,87	1,03	1,065	1,24
Première métamorphose en jours	15	11	8	6
Dernière métamorphose en jours	25	15	10	9

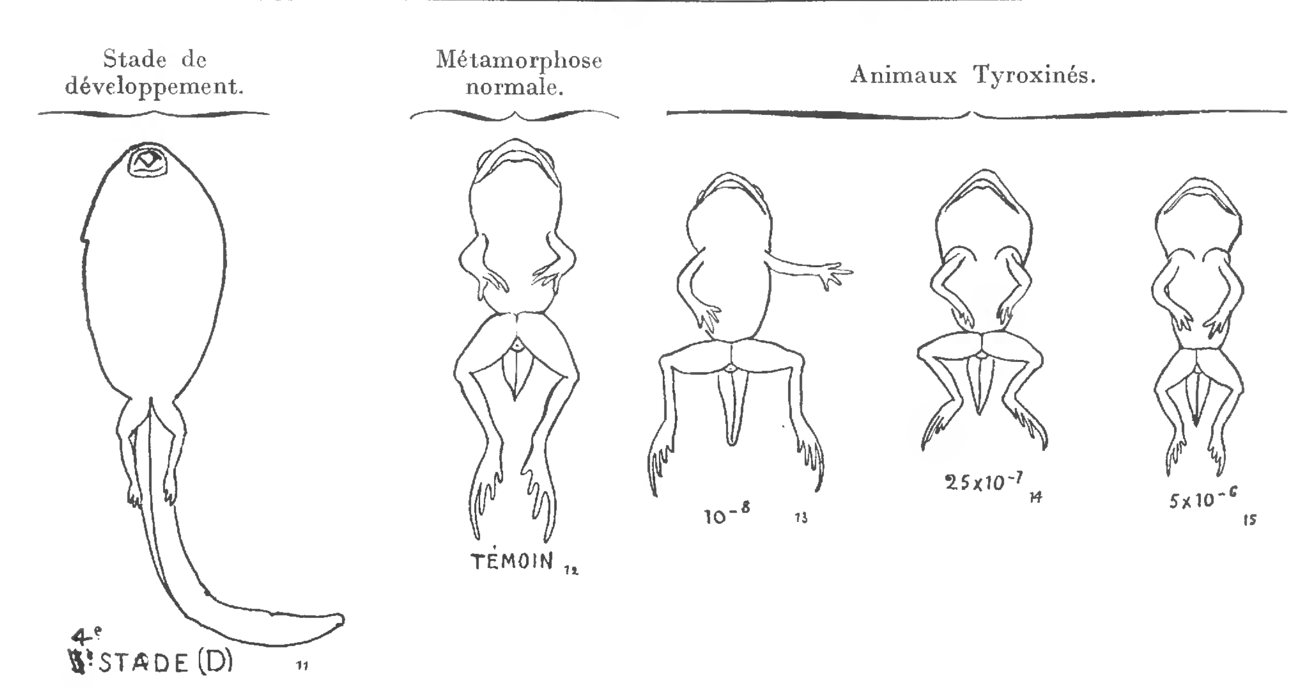


TABLEAU N° 4

TÊTARDS DE RANA TEMPORARIA PRIS AU STADE 5 (*E*).

	Témoins	Thyroxine		
		10^{-8}	$2,5 \times 10^{-7}$	5×10^{-6}
Longueur du tronc en m/m....	12,5	11,25	11,05	11,2
Longueur des membres postér.	14	12	11,05	11,2
Longueur des membres antér..	7	6,5	6	6
Largeur de la tête............	6	5	5	5
Rapport entre le tronc et et les membres postérieurs........	$\frac{12,5}{14}$	$\frac{11,25}{12}$	$\frac{11,05}{11,05}$	$\frac{11,2}{11,2}$
Coefficient	0,89	0,94	1	1
Première métamorphose en jours	8	6	6	6
Dernière métamorphose en jours	15	11	11	7

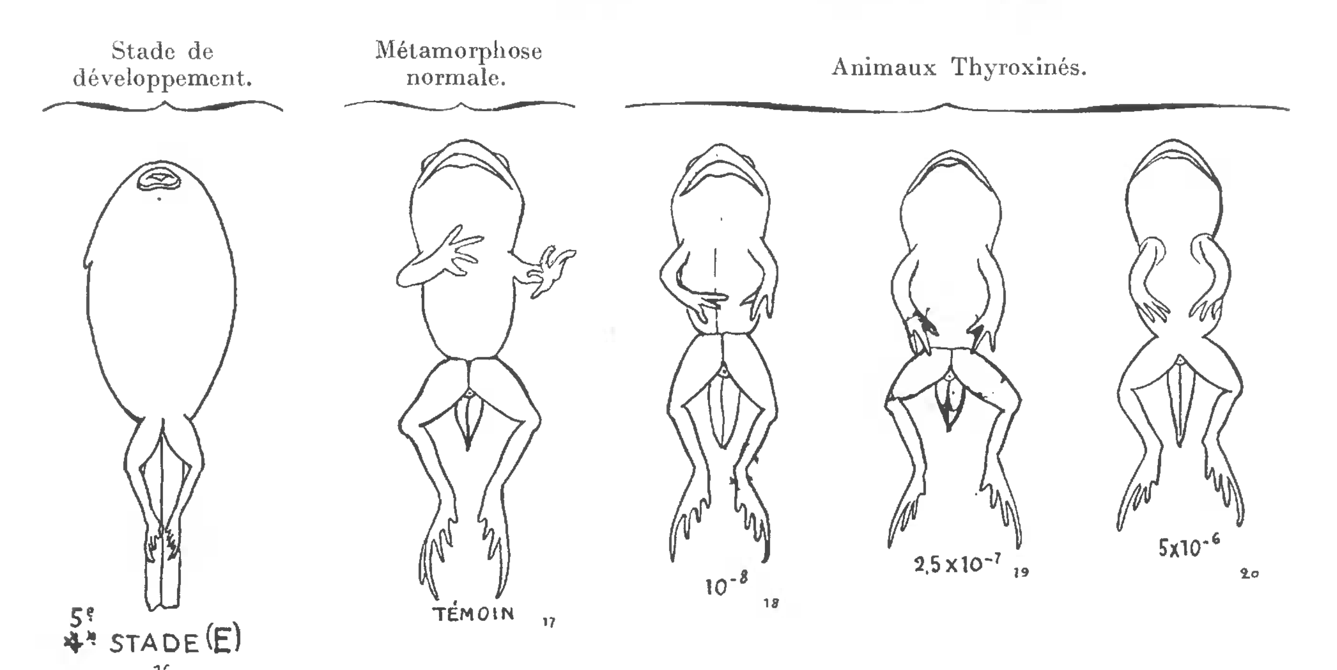
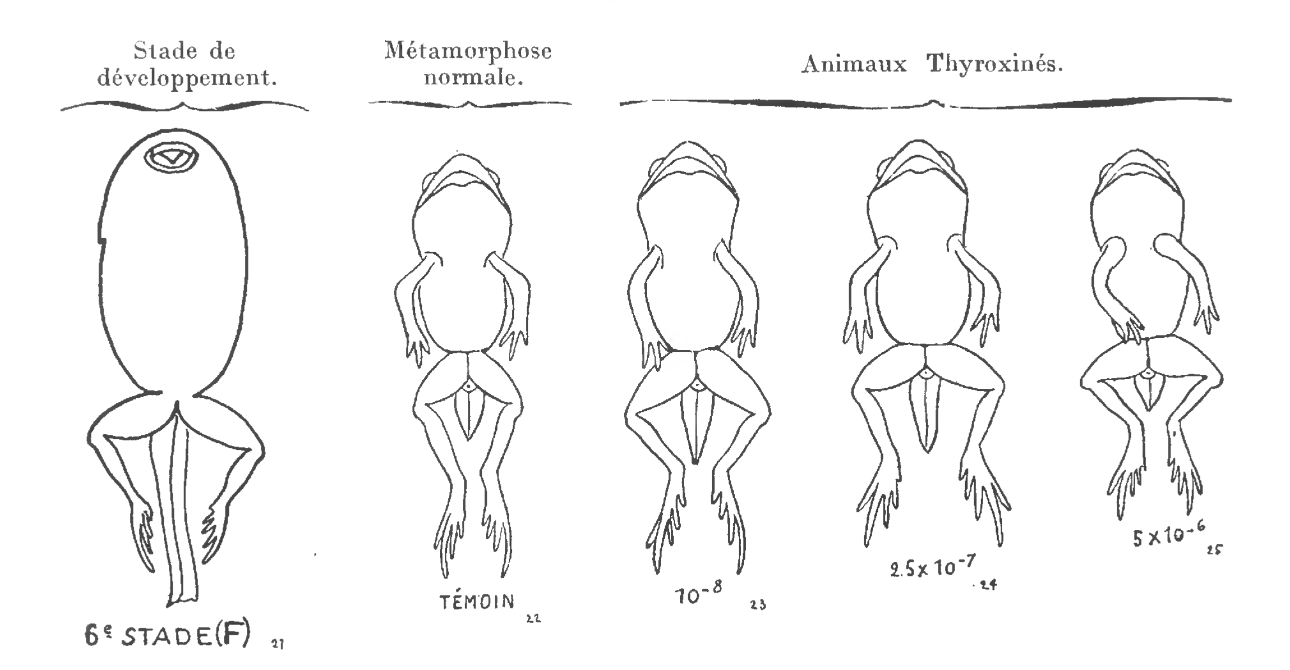


TABLEAU N° 5

TÊTARDS DE RANA TEMPORARIA PRIS AU STADE 6 (*F*).

	Témoins	Thyroxine		
		10^{-8}	$2,5 \times 10^{-7}$	5×10^{-6}
Longueur du tronc en m/m....	11,5	11,95	11,85	11,5
Longueur des membres postér.	12,5	13,45	12,75	11,6
Longueur des membres antér..	6,5	6,5	6,5	5,7
Largeur de la tête...........	5	5	5	5
Rapport entre le tronc et les membres postérieurs.......	$\frac{11,5}{12,5}$	$\frac{11,95}{13,45}$	$\frac{11,85}{12,75}$	$\frac{11,5}{11,6}$
Coefficient	0,92	0,89	0,93	0,99
Première métamorphose en jours	4	3	3	3
Dernière métamorphose en jours	9	8	7	8



Discussion. — Dans ses expériences de 1919, faites, non avec la thyroxine (qui venait à peine d'être isolée par Kendall), mais avec de l'extrait thyroïdien mélangé au milieu d'élevage, Kollmann n'obtint aucun résultat aux trois premiers stades, quelques réactions au stade 4, métamorphose rapide aux stades 5 et 6 chez les animaux thyroïdisés, métamorphose exceptionnelle chez les témoins du stade 5, plus fréquente chez les témoins du stade 6 et aucune réaction au stade 7, le temps de métamorphose des animaux thyroïdisés étant égal à celui des témoins.

Comment expliquer ce manque de réactions des animaux pris aux trois premiers stades alors que, depuis ces expériences, Dragoiü et Fauré-Frémiet, avec la thyroïde fraîche et en poudre, Romeïs, Alphonse et Baumann avec la thyroxine et moi-même, avec la thyroxine et la thyroïde humaine normale et pathologique [1] avons obtenu des réactions très vives avec les têtards pris à ces mêmes stades ?

Pour éliminer toute cause d'erreur, Kollmann faisait jeûner ses animaux et ne commençait les expériences que lorsqu'il avait constaté l'absence persistante d'excréments dans les récipients contenant les animaux, de plus, pendant les expériences, il ne les nourrissait pas. Il utilisait donc des têtards en état d'inanition. C'est cette inanition qui est à la base des résultats négatifs enregistrés par cet auteur pour les trois premiers stades du développement. La preuve en est administrée par les résultats généraux de ses expériences.

En effet, les têtards pris au 1er stade venaient de résorber leur vitellus depuis peu de temps et n'avaient donc pas encore été nourris ou tout au moins très peu ; ceux pris aux 2e et 3e stades ne l'étaient pas depuis longtemps et on peut penser que leurs réserves pour tant qu'ils en eussent, avaient été consommées pendant le jeûne préalable auquel ils avaient été soumis et la métamorphose expérimentale ne se déclenchât pas.

Au contraire, les animaux pris aux 4e, 5e et 6e stades, nourris depuis plus de temps, qui possédaient certainement des réserves et chez qui les processus métamorphotiques étaient près de se déclencher, se métamorphosèrent rapidement.

Il eût cependant été facile à l'auteur de s'assurer que la poudre de viande, l'ovalbumine et le jaune d'œuf, généralement employés par les expérimentateurs pour la nourriture des têtards, ne provoquaient pas le déclanchement rapide de la métamorphose.

Kollmann estimait (et c'est là une seconde erreur) trop brutale la métamorphose provoquée par l'*ingestion* de l'extrait thyroïdien et, pour éviter cela, il a mélangé l'extrait au milieu d'élevage. De ce

1. Expériences qui seront publiées prochainement.

fait, l'absorption de l'extrait s'est opérée par la peau, mais ce mode d'absorption d'*extraits d'organes* à grosses molécules doit avoir des effets lents à se produire, beaucoup plus lents que ceux de l'ingestion. Seul un produit chimique défini eomme la thyroxine permet un bon mélange avec le milieu et une absorption rapide. Quand j'ai eu à opérer avec de la thyroïde humaine, goîtreuse ou non, j'ai simplement donné aux animaux de très petits fragments de ces glandes en quantité fixe pour un nombre d'animaux donné et non en mélangeant au milieu, un broyat ou un filtrat. Cette méthode, qui m'a donné de bons résultats, n'est pas sans inconvénients ; il est évident que certains animaux, plus voraces ou plus vigoureux arrivent à absorber plus de tissu thyroïdien que les autres, mais on peut obvier, *partiellement*, à cet inconvénient en isolant les animaux et en leur fournissant une ration individuelle, identique pour tous. Mais il n'est pas prouvé que les rations fournies seraient *toutes* entièrement consommées, et, le seraient-elles, que le processuss d'assimilation ne se dérouleraient eertainement pas d'une manière identique chez tous les sujets en expérience, et les différences de métabolisme se traduiraient par des différences dans les temps de métamorphose et dans les mensurations des animaux.

Ce sont là des variables qu'il n'est pas encore possible d'éliminer en biologie expérimentale.

Bref, Kollmann n'obtint des résultats positifs qu'aux stades 5 et 6, précisément ceux qui sont voisins de la métamorphose naturelle et qui ne permettent que d'accélérer quelque peu et non de *déclencher* les processus de la métamorphose.

D'autre part, Alphonse et Baumann ont provoqué la métamorphose expérimentale des têtards de *Bufo vulgaris* en les soumettant à des doses de thyroxine atteignant 1/50.000e.

Il est évident que, du fait de cette dose élevée, les auteurs ont eréé des conditions expérimentales telles, qu'une forte mortalité a sévi parmi les animaux, ce qui les a amenés à réduire le temps d'immersion dans le milieu thyroxiné. Cependant, malgré ces doses massives, les auteurs n'ont pas obtenu des résultats supérieurs à ceux que Fontès et Aron et moi-même avons obtenu avec des têtards de grenouille pris à un stade de croissance équivalent (1 et 2) et en les soumettant à des doses de 25 à 5 millionièmes, doses très fortes quant à l'effet produit, mais très faibles comparées à celles employées par les auteurs. Mais on sait depuis longtemps que les doses oligodynamiques produisent proportionnellement infiniment plus d'effet que les doses massives.

Conclusions. — En employant la thyroxine synthétique, produit ehimique défini à des doses oligodynamiques, on provoque la

métamorphose accélérée des têtards de grenouille à presque tous les stades de leur développement. Mais c'est aux trois premiers stades que l'on *déclenche* véritablement les processus métamorphotiques, alors qu'aux stades suivants on ne fait que les précipiter, avec les plus fortes doses seulement et encore de moins en moins à mesure que le stade où sont parvenus les animaux se rapproche de la métamorphose naturelle.

Les insuccès de Kollmann, dus à l'inanition, prouvent qu'il est nécessaire, pour que la croissance se fasse normalement et pour que se déclenchent les processus de la métamorphose, que les têtards soient nourris, et avec un régime non *carencé* (Roméïs). J'ajouterai qu'il en est de même pour la métamorphose expérimentale.

Le déclenchement des processus métamorphotiques chez les larves de Batraciens au moyen de la thyroxine, est donc fonction de l'état de leur développement au moment de l'expérience.

BIBLIOGRAPHIE

Alphonse (P.) et Baumann (G.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1934, t. 117 (567).
— *Arch. d'Anat. Histol. Embryol.*, 1935, t. 19 (267).
Bredt (H.). — *Arch. f. Entwickl. Mech.*, 1933, t. 129 (573-600).
Dragoiu et Fauré-Frémiet. — *C. R. Soc. Biol.*, 1921, t. 85 (437).
Fontès et Aron. — *C. R. Soc. Biol.*, 1929, t. 102 (679).
Kollmann (M.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1919, t. 82 (1009).
Romeïs (B.). — *Arch. f. Mikr. Anat. Entw. Mech.*, 1925, t. 104.
Roth (P.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1933, t. 113 (342).
— *Id.*, 1934, t. 115 (101).
— *C. R. Soc. Linnéenne Lyon*, 1937, n° 4.

Laboratoire de la Ménagerie du Muséum.